УДК 619:616.9:636.4

Скворцов В.Н., Юрин Д.В., Заикина Е.Н.
(Белгородский филиал Всероссийского научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко)

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ, ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ И ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЦИПРОФЛОКСАЦИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ КОЛИБАКТЕРИОЗЕ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Ключевые слова: ципрофлоксацин, колибактериоз, терапевтическая и профилактическая эффективность.

Ципрофлоксацин представляет собой 1-циклопропил-6-фтор-1,4-дигидро-4-оксо-7(1-пиперазинил)-3-хинолон-карбоновую кислоту, и впервые был синтезирован фирмой «Bayer» в 1981 году [3]. Препарат представляет собой кристаллический порошок с желтоватым оттенком, без запаха, горького вкуса и слаборастворимый в воде. Ципрофлоксацин относится к антимикробным препаратам с бактерицидным механизмом действием.

Антимикробное действие ципрофлоксацина, как и всех фторхинолоновых соединений, основано на ингибировании фермента бактериальной клетки из группы топоизомераз–ДНК–гиразы [4, 5]. На этом основании фторхинолоны часто объединяют под общим названием ингибиторов ДНК-гиразы.

Материалы и методы исследований

Определение чувствительности выделенных микроорганизмов к ципрофлоксацину проводили диско-диффузионным методом на среде Мюллера-Хинтона в соответствии с методическими указаниями по определению чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам МУК 4.2.1890-04 [1].

Определение минимальной подавляющей концентрации (МПК) ципрофлоксацина для кишечной палочки проводили методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде, а так же при использовании HiComb Strip – теста (HiMedia Laboratories Pvt.Limited, Индия).

Тест HiCombStrip (HiMediaLaboratoriesPvt.Limited), с помощью которого определяли минимальную подавляющую концентрацию ципрофлоксацина, представляет собой две полимерные пластины с нанесенными на них в виде гребенки бумажными дисками, пропитанными препаратом. Тест покрывает диапазон концентраций от 0,001 до 240 мкг (полоска А) и от 0,01 до 8 мкг (полоска В), и может быть использован для определения чувствительности различных видов аэробных и анаэробных микроорганизмов.

Терапевтическую и профилактическую эффективность ципрофлоксацина определяли на модели генерализованной инфекции белых мышей, воспроизводимой внутрибрюшинным введением суточной культуры Escherichia coli в концентрации 500 млн. мк. тел в 1 мл. Гибель животных в контрольной группе животных, которым препарат не вводили, наблюдали через 24-48 часов.

При определении терапевтической эффективности препарат вводили подкожно, однократно, непосредственно после заражения в форме 0,1% раствора. Дозы ципрофлоксацина колебались от 5 до 10 мг/кг массы.

Длительность наблюдения за животными в опыте составляла 10 суток.

Оценку терапевтической эффективности ципрофлоксацина проводили с учетом выживаемости подопытных и контрольных мышей, продолжительности жизни леченых животных по сравнению с контрольными, а также учитывали высеваемость бактерий из крови и внутренних органов. Длительность жизни животных выражали в виде суммы всех дней, которые прожили все животные в данной группе после заражения (мыше-дни).

Высеваемость бактерий из крови и внутренних органов контрольных (24 часа) и опытных животных (1, 3, 5 и 10 сутки) проводили путем высева проб на агар Эндо с последующей идентификацией.

Эффективность использованных доз препаратов определяли по следующим критериям:

Высокоактивная доза - суммарная продолжительность жизни мышей составляет 80-100% от максимально возможной, ак-

тивная доза - данный показатель равен 40-80%, слабоактивная доза - менее 40%, неактивная доза - разница в суммарной продолжительности леченых животных по сравнению с контролем недостоверна [2].

Профилактическую эффективность ципрофлоксацина определяли при экспериментальном заражении белых мышей полевыми культурами Escherichia coli. Методика проведения исследования и учета полученных результатов соответствует определению терапевтической эффективности, за исключением того, что ципрофлоксацин вводили в дозе 7,5 мг/кг массы тела за 1, 3 и 6 часов до заражения.

Результаты исследований

Определение чувствительности выделенных микроорганизмов является исходным пунктом для изучения терапевтической эффективности антимикробного препарата.

Данные о чувствительности микроорганизмов к ципрофлоксацину свидетельствуют о том, что из 72 штаммов Escherichia coli, выделенных от свиней 63 (87,5%) были чувствительны к ципрофлоксацину, 5 (6,9%) – имели промежуточные значения чувствительности, и только 4 штамма (5,6%) оказались устойчивыми.

Полученные in vitro результаты свидетельствуют о высокой чувствительности выделенных микроорганизмов к ципрофлоксацину, что позволило продолжить его изучение.

Для определения оптимальных доз ципрофлоксацина и разработки эффективного метода лечения колибактериоза необходимо знать количественные характеристики его антимикробного спектра. С этой целью мы определили минимальную подавляющую концентрацию ципрофлоксацина в отношении выделенных микроорганизмов.

Полученные данные указывают на высокую чувствительность к препарату эшерихий. МПК ципрофлоксацина для этих микроорганизмов составила 0,01-0,47 мкг/мл.

Минимальная бактерицидная концентрация ципрофлоксацина в отношении Escherichia coli превысила МПК в 2 раза и составила 0,2-0,94 мкг/мл. Полученные данные свидетельствуют о том, что ципрофлоксацин обладает выраженным бактерицидным действием.

В предварительных опытах при длительном пересеве микроорганизмов на жидких питательных средах с возрастающими концентрациями ципрофлоксацина были получены устойчивые к его действию штаммы микроорганизмов. При этом достигнутый уровень МПК превышал исходные значения во много раз. Исходя из этого, значительный интерес представляет развитие перекрестной устойчивости между ципрофлоксацином и другими препаратами группы фторхинолонов. Для этого были проведены опыты по изучению чувствительности ципрофлоксацин – резистентных штаммов к энрофлоксацину и норфлоксацину.

Полученные результаты показали, что практически все использованные в опыте устойчивые к ципрофлоксацину эшерихии были устойчивы и к энрофлоксацину. МПК энрофлоксацина для ципрофлоксацин–резистентных эшерихий колебалась от 9,34 до 18,75 мкг/мл, при исходной чувствительности 0,075-0,15 мкг/мл.

Аналогичные результаты были получены и в отношении норфлоксацина. В данном опыте МПК норфлоксацина для ципрофлоксацин–резистентных эшерихий равнялась 37,5–75 мкг/мл при чувствительности исходных культур 0,15-0,45 мкг/мл.

Таким образом, можно сделать вывод, что в отношении эшерихий между ципрофлоксацином, энрофлоксацином и норфлоксацином наблюдается перекрестная резистентность.

Исследования по изучению терапевтической эффективности ципрофлоксацина проведены на модели экспериментального колибактериоза белых мышей (табл. 1).

Из полученных данных видно, что по завершении эксперимента выжили животные во второй и третьей группах (по 4 и 6 особей соответственно), которым препарат вводили в дозах 7,5 и 10 мг/кг массы тела. В первой группе животных, котором ципрофлоксацин инъецировали в дозе 5 мг/кг массы тела, наблюдалась 100% смертность. Суммарная продолжительность жизни животных составила соответственно 21, 51 и 75% при 2% в контроле.

Наибольший эффект наблюдался при введении препарата в дозах 10 и 7,5 мг/кг массы тела (активные дозы). Минимальный терапевтический эффект выявлен при назначении ципрофлоксацина в концентрации 5 мг/кг массы (слабоактивная доза).

Наряду с терапевтической эффективностью, была исследована способность ципрофлоксацина предотвращать развитие экспериментального колибактериоза белых мышей. Препарат инъецировали в

Таблица 1

Терапевтическая эффективность ципрофлоксацина при эшерихиозной инфекции белых мышей

Препарат и способ введения	Доза, мг/кг	Число животных, голов	Выжило	Пало	Суммарная продолжительность жизни		
					Абс.	%	ρ
Ципрофлоксацин подкожно, однократно	5	10	0	10	21/100	21	<0,05
	7.5	10	4	6	51/100	51	<0,05
	10	10	6	4	75/100	75	<0,05
Контроль	-	10	0	10	2/100	2	-

дозе 7,5 мг/кг массы тела подкожно, однократно за 1, 3 и 6 часов до заражения. Результаты профилактической эффективности ципрофлоксацина при экспериментальном колибактериозе белых мышей представлены в таблице 2.

Таблица 2

Профилактическая эффективность ципрофлоксацина при экспериментальном колибактериозе белых мышей

Возбудитель	Ципрофлоксацин, часы до заражения	Доза, мг/кг	Число животных, гол.	Выжило	Пало	Суммарная продолжительность жизни		
						Абс.	%	ρ
Escherichia coli	1 час	7,5	10	0	10	47/100	47	<0,05
	3 часа	7,5	10	0	10	34/100	34	<0,05
	6 часов	7,5	10	0	10	21/100	21	<0,05
	Контроль	-	10	0	10	5/100	5	-

Полученные экспериментальные данные показывают, что ципрофлоксацин в дозе 7,5 мг/кг массы тела оказывает умеренное профилактическое действие при введении за 1 час до заражения (активная доза). При этом суммарная продолжительность жизни опытных мышей составляет 47% от максимально возможной при 5% в контроле.

Подкожная инъекция препарата за 3 и 6 часов до заражения оказывает минимальное профилактическое действие (слабоактивные дозы). В этих группах суммарная продолжительность жизни опытных мышей не превышала соответственно 34 и 21% от максимума.

При этом к концу опыта выживших животных не было ни в одной группе, а из всех исследованных проб крови, печени, почек и селезенок была выделена культура Escherichia coli.

Выводы

МПК ципрофлоксацина в отношении Escherichia coli составила 0,01-0,47 мкг/мл. Минимальная бактерицидная концентрация ципрофлоксацина превышает значение МПК в 2-4 раза.

При экспериментальном колибактериозе белых мышей наибольшую терапевтическую активность ципрофлоксацин оказывает при его назначении в дозах 10 и 7,5 мг/кг массы тела (активные дозы). Максимальное профилактическое действие наблюдается при введении препарата в дозе 7,5 мг/кг массы тела за 1 час до заражения лабораторных животных.

Резюме: Была изучена антимикробная активность ципрофлоксацина в отношении Escherichia coli, а так же его терапевтическая и профилактическая эффективность на модели экспериментального колибактериоза лабораторных животных. Минимальная подавляющая концентрация (МПК) препарата в отношении Escherichia coli составила 0,01-0,47 мкг/мл. Минимальная бактерицидная концентрация ципрофлоксацина превышает значение МПК в 2-4 раза. При экспериментальном колибактериозе белых мышей наибольшую терапевтическую активность ципрофлоксацин оказывает при его назначении в дозах 10 и 7,5 мг/кг массы тела (активные дозы). Максимальное профилактическое действие наблюдается при введении препарата в дозе 7,5 мг/кг массы тела за 1 час до заражения лабораторных животных.

SUMMARY

Studied the antimicrobial activity of ciprofloxacin against Escherichia coli, as well as the therapeutic and prophylactic efficacy in the model of experimental colibacillosis laboratory animals. The minimum inhibitory concentration (MIC) of the drug against Escherichia coli was 0,01-0,47 g / ml. The minimum bactericidal concentration of ciprofloxacin MIC greater than 2-4 times. In experimental colibacillosis white mice most therapeutic activity has ciprofloxacin when administered at doses of 10 and 7.5 mg / kg body weight (active immunization). Maximum preventive effect observed with administration of the drug at a dose of 7.5 mg / kg for 1 hour prior to the infection of laboratory animals.

Keywords: ciprofloxacin, colibacillosis, therapeutic and prophylactic efficacy.

Литература

1. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: методические указания МУК 4.2.1890-04 сост. Семина Н.А., Сидоренко С.В. [и др.]. – М. 2004. – 54 с.

2. Першин Г.Н. Методы экспериментальной химиотерапии. - М.:Медгиз., 1961. – 503 с.

3. Яковлев В.П. Ципрофлоксацин в клинической практике / В.П. Яковлев, Е.Н. Падейская, С.В. Яковлев. – 2-е изд., испр. и доп. – М.: Вузовская книга, 2009. – 320 с.: ил.

4. Neu H.C. In vitro activity of norfloxacin, a quinolonecarboxilisacid, compared with that of β – lactams, aminoglycosides and trimethoprim // Antimicrob. Ag. Chemother. – 1982.- № 22. – p 23 – 27.

5. Scheer M. et al. Baytril: Antibakterialle aktivität sowie Serum - und Gewebenspiegel beim Kalb // Proceedings: 14. Weltcongreβ Rinderkrankheiten. – Dublin. – 1986. – s. 64 – 65.

Контактная информации об авторах для переписки

Скворцов Владимир Николаевич - доктор ветеринарных наук, директор Белгородского филиала Государственного научного учреждения Всероссийского научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко.

Юрин Дмитрий Васильевич - научный сотрудник Белгородского филиала Государственного научного учреждения Всероссийского научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко.

Заикина Елена Николаевна – младший научный сотрудник Белгородского филиала Государственного научного учреждения Всероссийского научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко.

Контактная информация: 308002, г. Белгород, ул. Курская, д. 4. Тел. (4722) 26-29-75. Электронный адрес: tap59@yandex.ru; bes512@yandex.ru.

ВЕТЕРИНАРНАЯ КЛИНИКА
ЦЕНТР

344068, г. Ростов-на-Дону,
ул.Фурмановская, д.106/43
(863)2926536
www.vetcentr.com